

Verwendung der Inhibitoren von Enzymen mit Aktivitäten der Aminopeptidase N und/oder der Dipeptidylpeptidase IV und pharmazeutischen Zubereitungen daraus zur Therapie und Prävention dermatologischer Erkrankungen mit Hyperproliferation und veränderten Differenzierungszuständen von Fibroblasten

Beschreibung

Die Erfindung beschreibt die Hemmung der für die Proliferation und Differenzierung notwendigen DNA-Synthese von Fibroblasten durch die Wirkung von Inhibitoren der Aminopeptidase N (APN, EC 3.4.11.2, CD13) oder/und der Dipeptidylpeptidase IV (DP IV, EC 3.4.14.5, CD26) im Ergebnis der einzelnen, simultanen oder zeitlich unmittelbar aufeinanderfolgenden Applikation von jeweils spezifischen Inhibitoren dieser Enzyme oder von Inhibitoren von Enzymen gleicher Substratspezifität (APN- oder/und DP IV-analoge Enzymaktivität) auf der Basis von Aminosäurederivaten, Peptiden oder Peptidderivaten, durch welche die Proliferation (DNA-Synthese) und Differenzierung von Fibroblasten supprimiert und moduliert wird.

Eine Reihe dermatologischer Erkrankungen gehen mit Hyperproliferation und veränderten Differenzierungszuständen von Fibroblasten einher. Zu ihnen gehören sowohl benigne fibroblastäre Hyperproliferationszustände (hier insbesondere postinfektiös, postinflammatorisch und posttraumatisch: hypertrophe Narben, Keloide, Angiofibrome, Dermatofibrome, Fibrolipome, Ulcusnarben), die auch auch im Rahmen disseminierter (Myo-)Fibromatosen auftreten (z.B. kongenitale disseminierte Fibromatose), als auch maligne fibroblastäre Hyperproliferationszustände (z.B. Fibrosarkome, Mischtumoren wie atypisches Fibroxanthom, malignes fibröses Histiozytom, aggressives Angiomyxom, Paraneoplasien). Eine weitere Erkrankungsgruppe bilden

fibrosierende Autoimmunerkrankungen wie die lokalisierte und systemische Sklerodermie in ihren verschiedenen Ausprägungen (zirkumskripte S., progressiv-systemische S., CREST-Syndrom), die Dermatosklerose bei anderen Kollagenosen und die cutane Variante der Graft-versus-Host-Erkrankung. Veränderte Differenzierungszustände der Fibroblasten sind Ausdruck verschiedener fibrosierender Erkrankungen mit derzeit noch weitgehend ungeklärter Ätiologie. Hierzu zählen der Lichen sclerosus et atrophicus und die heterogene Gruppe der Pseudosklerodermien (wie z.B. die eosinophile/proliferierende Fasciitis, exogen verursachte Pseudosklerodermien wie Toxic oil syndrome, Silikose, Porphyrien, Eosinophilie-Myalgie-Syndrom, Lichen myxödematosus oder Borrelien-assoziierte Fibrosierungen). Weiterhin gibt es sekundäre Sklerosierungen wie z.B. im Rahmen einer Stauungsfibrose bei chronisch venöser Insuffizienz und bei Lipolymphödemen, im fibrosierenden Spätstadium der Alopecia androgenetica und seltene lokalisierte fibroblastäre Erkrankungen (M. Dupuytren, M. Ledderhose, "Knuckle pads", Induratio penis plastica).

Peptidasen wie die Dipeptidylpeptidase IV und die Aminopeptidase N oder ähnlich wirkende Enzyme sind für die Regulation bzw. Modulation von Wechselwirkungen zwischen Zellen besonders interessant, da sie zum Teil als Ektoenzyme in der Plasmamembran der Zellen lokalisiert sind, Interaktionen mit anderen extrazellulären Strukturen eingehen, peptiderge Botenstoffe durch enzymkatalysierte Hydrolyse aktivieren bzw. inaktivieren und dadurch wichtig für die Zell-Zell-Kommunikation sind [Yaron A, et al.: Proline-dependent structural and biological properties of peptides and proteins. Crit Rev Biochem Mol Biol 1993;28:31-81; Vanhoof G, et al.: Proline motifs in peptides and their biological processing. FASEB J 1995;9:736-744].

Es ist gezeigt worden, dass im Prozess der Aktivierung und klonalen Expansion von Immunzellen, insbesondere von T-Lymphozyten, membranständige Peptidasen wie DP IV oder APN eine Schlüsselrolle spielen [Fleischer B: CD26

a surface protease involved in T-cell activation. Immunology Today 1994; 15:180-184; Lendeckel U et al.: Role of alanyl aminopeptidase in growth and function of human T cells. International Journal of Molecular Medicine 1999; 4:17-27; Riemann D et al.: CD13 - not just a marker in leukemia typing. Immunology Today 1999; 20:83-88]. Verschiedene Funktionen Mitogen-stimulierter mononukleärer Zellen (MNZ) oder angereicherter T-Lymphozyten wie DNA-Synthese, Produktion und Sekretion von immunstimulierenden Zytokinen (IL-2, IL-6, IL-12, IFN- γ) und Helferfunktionen für B-Zellen (IgG- und IgM-Synthese) können in Gegenwart von spezifischen Inhibitoren der DP IV oder der APN gehemmt werden [Schön E et al.: The dipeptidyl peptidase IV, a membrane enzyme involved in the proliferation of T lymphocytes. Biomed. Biochim. Acta 1985; 2: K9-K15; Schön E et al.: The role of dipeptidyl peptidase IV in human T lymphocyte activation. Inhibitors and antibodies against dipeptidyl peptidase IV suppress lymphocyte proliferation and immunoglobulin synthesis in vitro. Eur. J. Immunol. 1987; 17: 1821-1826; Reinhold D et al.: Inhibitors of dipeptidyl peptidase IV induce secretion of transforming growth factor β 1 in PWM-stimulated PBMNC and T cells. Immunology 1997; 91: 354-360; Lendeckel U et al.: Induction of the membrane alanyl aminopeptidase gene and surface expression in human T-cells by mitogenic activation. Biochem. J. 1996; 319: 817-823; Kähne T et al.: Dipeptidyl peptidase IV: A cell surface peptidase involved in regulating T cell growth (Review). Int. J. Mol. Med. 1999; 4: 3-15; Lendeckel U et al.: Role of alanyl aminopeptidase in growth and function of human T cells (Review). Int. J. Mol. Med. 1999; 4: 17-27].

Es ist bereits bekannt, daß die Behandlung von Autoimmunerkrankungen und Transplantatabstoßung durch Hemmung der auf Immunzellen lokalisierten Dipeptidylpetidase IV mit Hilfe von synthetischen Inhibitoren möglich ist (z. B. EP-A 0 764151, WO095/29691, EP-A 0 731 789, EP-A 0 528 858).

Der Erfindung liegt der überraschende Befund zugrunde, dass die einzelne oder gleichzeitige Wirkung von Inhibitoren der auf bzw. in Fibroblasten

exprimierten Dipeptidylpeptidase IV / DP IV bzw. CD26 oder von Inhibitoren von Enzymen mit gleicher Substratspezifität (DP IV-analoge Enzymaktivität) und von Inhibitoren der Aminopeptidase N / APN bzw. CD13 oder von Inhibitoren von Enzymen mit gleicher Substratspezifität (APN-analoge Enzymaktivität), die Proliferation (DNA-Synthese) von Fibroblasten hemmt.

Unsere Erfindung zeigt, dass zur Therapie und zur Prävention von dermatologischen Erkrankungen mit fibroblastärer Hyperproliferation und veränderten Differenzierungszuständen, für deren Entstehung die Proliferation und die differenzierte Regelung der DNA-Synthese von Fibroblasten eine zentrale Bedeutung hat, die einzelne oder gleichzeitige Applikation von Hemmstoffen der DP IV und der APN oder von Hemmstoffen von Enzymen gleicher Substratspezifität (APN- oder/und DP IV-analoge Enzymaktivität) bzw. entsprechender Zubereitungen und Darreichungsformen daraus geeignet sind.

Im einzelnen liegen der Erfindung die Befunde zugrunde, dass die DNA-Synthese von Fibroblasten durch die Gabe von Inhibitoren der Dipeptidylpeptidase IV oder von Inhibitoren von Enzymen mit gleicher Substratspezifität oder/und von Inhibitoren der Aminopeptidase N oder von Inhibitoren von Enzymen mit gleicher Substratspezifität signifikant inhibiert wird.

Die oben genannten Erkrankungen werden bisher topisch und/oder systemisch mit Immunsuppressiva, Glukokortikosteroïden, unspezifischen Antiinflammatorien und Emolientien sowie symptomatisch mit Physiotherapie behandelt. Insbesondere bei den systemischen Medikationen treten häufig unerwünschte Nebenwirkungen auf. Dies sind u. a. Cushing Syndrom, Osteoporose, Infektionen oder Diabetes mellitus. Bei der Lokaltherapie stehen eine örtliche Hautatrophie und erhöhte Hautverletzlichkeit im Vordergrund. Sowohl bei der systemischen als auch bei der lokalen immunsuppressiven Therapie können Hauttumoren propagiert werden.

Der Einsatz von DP IV- oder/und APN-Inhibitoren würde bei den genannten Erkrankungen vor allem in den frühen Stadien eine gänzlich neuartige, vorraussichtlich sehr effektive, möglicherweise kostengünstige Therapieform und einen wertvollen alternativen Bestandteil der bestehenden Therapiekonzepte darstellen.

Die erfindungsgemäß applizierten Inhibitoren der Dipeptidylpeptidase IV oder Inhibitoren von Enzymen mit gleicher Substratspezifität (DP IV-analoge Enzymaktivität) oder/und Inhibitoren der Aminopeptidase N oder Inhibitoren von Enzymen gleicher Substratspezifität (APN-analoge Enzymaktivität) können in pharmazeutisch anwendbaren Formulierungskomplexen als Inhibitoren, Substrate, Pseudosubstrate, inhibitorisch wirkende Peptide und Peptidderivate sowie als Antikörper dieser Enzyme zur Anwendung kommen. Die Inhibitoren gemäß der Erfindung werden allein oder in Kombination von mehreren von Ihnen, vorzugsweise in Kombination von zweien von ihnen, eingesetzt.

Bevorzugte Effektoren sind für die DP IV Xaa-Pro-Dipeptide, entsprechende Derivate, vorzugsweise Dipeptidphosphonsäurediarylester, Dipeptidboronsäuren (z. B. Pro-boro-Pro) und deren Salze, Xaa-Xaa-(Trp)-Pro-(Xaa)_n-Peptide (n = 0 bis 10), entsprechende Derivate und deren Salze bzw. Aminosäure (Xaa)-amide, entsprechende Derivate und deren Salze, wobei Xaa eine α -Aminosäure/Iminosäure bzw. ein α -Aminosäurederivat/Iminosäurederivat, vorzugsweise N^ε-4-Nitrobenzyl-oxycarbonyl-L-Lysin, L-Prolin, L-Tryptophan, L-Isoleucin, L-Valin ist und als Amidstruktur cyclische Amine, z.B. Pyrrolidin, Piperidin, Thiazolidin und deren Derivate fungieren. Derartige Verbindungen und deren Herstellung wurden in einem früheren Patent beschrieben (K. Neubert et al. DD296075A5). Weiter können als Effektoren für die DP IV mit Vorteil Tryptophan-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure-derivate (TSL) und (2S,2S',2S'')-2-[2''-[2''-amino-3''-(indol-3''-yl)-1''-oxoprolyl]-1',2',3',4'-tetrahydro-6'8'-dihydroxy-7-methoxyisochinol-3-yl-carbonyl-amino]-4-hydromethyl-5-hydropentansäure (TMC-2A) verwendet

werden. Ein beispielhafter, mit Vorteil verwendbarer Inhibitor von DP IV ist Lys[Z(NO₂]-thiazolidid, worin Lys für einen L-Lysin-Rest steht und Z(NO₂) für 4-Nitrobenzyloxycarbonyl steht (vgl. DD-A 296075).

Als Inhibitoren der Alanyl-aminopeptidase (Aminopeptidase N, APN) kommen erfindungsgemäß beispielsweise Actinonin, Leuhistin, Phebestin, Amastatin, Bestatin, Probestin, β -Aminothiole, α -Aminophosphinsäuren, α -Aminophosphinsäurederivate, vorzugsweise D-Phe- ψ -PO(OH)-CH₂]Phe-Phe und deren Salze in Betracht. Bevorzugte Inhibitoren für die Alanyl-Aminopeptidase sind Bestatin (Ubenimex), Actinonin, Probestin, Phebestin, RB3014 oder Leuhistin.

Die Inhibitoren oder diese enthaltende pharmazeutische Zubereitungen werden simultan mit bekannten Trägerstoffen verabreicht. Von der Erfindung umfaßt sind auch pharmazeutische Zubereitungen, die zwei oder mehrere der Inhibitoren der DP IV bzw. Inhibitoren von Enzymen mit DP IV-analoger Enzymaktivität oder/und der APN bzw. Inhibitoren von Enzymen mit APN-analoger Enzymaktivität in räumlich getrennter Formulierung in Kombination mit an sich bekannten Träger-, Hilfs- und/oder Zusatzstoffen zur gleichzeitigen oder zeitlich unmittelbar aufeinanderfolgenden Verabreichung mit dem Ziel einer gemeinsamen Wirkung umfassen.

Die Verabreichung erfolgt einerseits als topische Applikation in Form von z.B. Cremes, Salben, Pasten, Gelen, Lösungen, Sprays, Liposomen und Nanosomen, Schüttelmixturen, "pegyierten" Formulierungen, degradierbaren (d. h. unter physiologischen Bedingungen abbaubaren) Depot-Matrices, Hydrokolloidverbänden, Pflastern, Mikroschwämmen, Prepolymeren und ähnlichen neuen Trägersubstraten, Jet-Injektion bzw. anderen dermatologischen Grundlagen/Vehikeln einschließlich instillativer Applikation, und andererseits als systemische Applikation zur oralen, transdermalen, intravenösen, subcutanen, intracutanen, intramuskulären Anwendung in geeigneten Rezepturen bzw. in geeigneter Galenik.

Der/die Inhibitor(en) gemäß der Erfindung sowie Zubereitungen, die einen oder mehrere von den genannten Inhibitoren und gegebenenfalls noch weitere Komponenten wie weitere Inhibitoren, sowie pharmazeutisch verträgliche Zusatz-, Hilfs- oder Trägerstoffe enthalten, kommen bei einer ganzen Anzahl von dermatologischen Erkrankungen bzw. Zuständen mit Hyperproliferation und veränderten Differenzierungszuständen von Fibroblasten vorbeugend oder therapiertend zur Anwendung. Beispielhaft können genannt werden eine Vorbeugung und Therapie von sowohl benignen fibrosierenden und sklerosierenden Erkrankungen (hier insbesondere postinfektiös und posttraumatisch: hypertrophe Narben, Keloide, Dermatofibrome, Fibrolipome wie auch disseminierte (Myo)-Fibromatosen) als auch malignen fibroblastären Hyperproliferationszuständen (z.B. Fibrosarkome, Mischtumoren wie atypisches Fibroxanthom, malignes fibröses Histiozytom, aggressives Angiomyxom, Paraneoplasien), von fibrosierenden Autoimmunerkrankungen wie der Sklerodermie (zirkumskripte Sklerodermie, progressiv-systemische Sklerodermie, CREST-Syndrom), der Dermatosklerose bei anderen Kollagenosen und der Graft-versus-Host-Erkrankung, des Lichen sclerosus et atrophicus und der heterogenen Gruppe der Pseudosklerodermien (wie z.B. die eosinophile/proliferierende Fasziitis, exogen verursachte Pseudosklerodermien wie Toxic oil syndrome, Silikose, Porphyrien, Eosinophilie-Myalgie-Syndrom, Lichen myxödematosus oder Borrelien-assoziierte Fibrosierungen), von sekundären Sklerosierungen wie z.B. im Rahmen einer Stauungsfibrose bei chronisch venöser Insuffizienz und bei Lipolymphödemen, im fibrosierenden Spätstadium der Alopecia androgenetica und von seltenen lokalisierten fibroblastären Erkrankungen (M. Dupuytren, M. Ledderhose, "Knuckle pads", Induratio penis plastica).

Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren zur Therapie und Prävention dermatologischer Erkrankungen mit Hyperproliferation und veränderten Differenzierungszuständen von Fibroblasten, das die Verabreichung von

Inhibitoren der Dipeptidylpeptidase IV (DP IV) sowie von Inhibitoren von Enzymen mit gleicher Substratspezifität (DP IV-analoge Enzymaktivität) oder/und von Inhibitoren der Alanyl-Aminopeptidase (Aminopeptidase N, APN) sowie von Inhibitoren von Enzymen gleicher Substratspezifität (APN-analoge Enzymaktivität) an einen Patienten umfaßt, der zur Prävention und/oder Therapie der obengenannten dermatologischen Erkrankungen einer Behandlung bedarf.

In besonders bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung werden an einen unter einer oder mehreren der nachfolgend im einzelnen genannten dermatologischen Erkrankungen leidenden oder einer Prävention der nachfolgend genannten Krankheiten bedürfenden Patienten ein Inhibitor oder mehrere Inhibitoren der genannten Enzyme oder eine oder mehrere, diese Inhibitoren einzeln oder bevorzugt in Kombination enthaltende pharmazeutische Zubereitung(en) verabreicht, die gewählt sind aus Inhibitoren der DP IV und besonders bevorzugt aus Xaa-Pro-Dipeptiden (Xaa = α -Aminosäure bzw. seitenkettengeschütztes Derivat), entsprechenden Derivaten, vorzugsweise Dipeptidphosphonsäurediarylestern, Dipeptidboronsäuren (z.B. Pro-boro-Pro) und deren Salzen, Xaa-Xaa-(Trp)-Pro-(Xaa)_n-Peptiden (Xaa = α -Aminosäure, n = 0 bis 10), entsprechenden Derivaten und deren Salzen, Aminosäure (Xaa)-amiden, entsprechende Derivaten und deren Salzen, wobei Xaa eine α -Aminosäure bzw. ein seitenkettengeschütztes Derivat, vorzugsweise N^ε-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-L-Lysin, L-Isoleucin, L-Valin, L-Tryptophan, L-Prolin, ist und als Amidstruktur cyclische Amine, z.B. Pyrrolidin, Piperidin, Thiazolidin und deren Derivate fungieren, und/oder Tryptophan-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure-derivate (TSL) und (2S,2S',2S'')-2-[2'-(2''-amino-3''-(indol-3'''-yl)-1''-oxoprolyl]-1',2',3',4'-tetrahydro-6'8'-dihydroxy-7-methoxyisochinol-3-yl-carbonyl-amino]-4-hydromethyl-5-hydropentansäure (TMC-2A), und Inhibitoren der APN, besonders bevorzugt Actinonin, Leuhistin, Phebestin, Amastatin, Bestatin, Probestin, β -Aminothiolen,

α -Aminophosphinsäuren, α -Aminophosphinsäurederivaten, vorzugsweise D- ψ -Phe-PO(OH)-CH₂]-Phe-Phe, und deren Salzen.

In weiteren bevorzugten Verfahren gemäß der Erfindung kommen die Inhibitoren und gegebenenfalls ihre Kombinationen und diese enthaltende pharmazeutische Zubereitungen zur Anwendung bei der Prävention und Therapie von Erkrankungen und bzw. Zuständen mit Hyperproliferation und veränderten Differenzierungszuständen von Fibroblasten. Beispielhaft können genannt werden eine Vorbeugung und Therapie von sowohl benignen fibrosierenden und sklerosierenden Erkrankungen (hier insbesondere postinfektiös und posttraumatisch: hypertrophe Narben, Keloide, Dermatofibrome, Fibrolipome wie auch disseminierte (Myo)-Fibromatosen) als auch malignen fibroblastären Hyperproliferationszuständen (z.B. Fibrosarkome, Mischtumoren wie atypisches Fibroxanthom, malignes fibröses Histiozytom, aggressives Angiomyxom, Paraneoplasien), von fibrosierenden Autoimmunerkrankungen wie der Sklerodermie (zirkumskripte Sklerodermie, progressiv-systemische Sklerodermie, CREST-Syndrom), der Dermatosklerose bei anderen Kollagenosen und der Graft-versus-Host-Erkrankung, des Lichen sclerosus et atrophicus und der heterogenen Gruppe der Pseudosklerodermien (wie z.B. die eosinophile/proliferierende Fasciitis, exogen verursachte Pseudosklerodermien wie Toxic oil syndrome, Silikose, Porphyrien, Eosinophilie-Myalgie-Syndrom, Lichen myxödematosus oder Borrelien-assoziierte Fibrosierungen), von sekundären Sklerosierungen wie z.B. im Rahmen einer Stauungsfibrose bei chronisch venöser Insuffizienz und bei Lipolympphödemen, im fibrosierenden Spätstadium der Alopecia androgenetica und von seltenen lokalisierten fibroblastären Erkrankungen (M. Dupuytren, M. Ledderhose, "Knuckle pads", Induratio penis plastica).

In erfindungsgemäß besonders bevorzugten Präventions- und/oder Therapieverfahren werden einer oder mehrere der genannten Inhibitoren der DP IV und/oder APN in der Weise zur Anwendung gebracht, daß zwei oder mehrere

der Inhibitoren der DP IV bzw. Inhibitoren von Enzymen mit DP IV-analoger Enzymaktivität oder/und Inhibitoren der APN bzw. Inhibitoren von Enzymen mit APN-analoger Enzymaktivität in räumlich getrennter Formulierung in Kombination mit an sich bekannten Träger-, Hilfs- und/oder Zusatzstoffen gleichzeitig oder zeitlich unmittelbar aufeinander folgend mit dem Ziel einer gemeinsamen Wirkung verabreicht werden. Die Verabreichung erfolgt als systemische Anwendung zur oralen, transdermalen, percutanen, intravenösen, subcutanen, intracutanen, intramuskulären, rektalen, vaginalen, sublingualen Applikation zusammen mit an sich bekannten Träger-, Hilfs- und/oder Zusatzstoffen und/oder als topische Anwendung in Form von Cremes, Salben, Pasten, Gelen, Lösungen, Sprays, Liposomen bzw. Nanosomen, "pegyierten" Formulierungen, degradierbaren Depot-Matrizes, Schüttelmixturen, Hydrokolloidverbänden, Pflastern, Mikroschwämmen, Prepolymeren und ähnlichen neuen Trägersubstraten, Jet-Injektionen bzw. anderen dermatologischen Grundlagen/Vehikeln, einschließlich instillativer Applikation.

Die Erfindung wird anhand der nachfolgenden Beispiele näher erläutert. Die Beispiele zeigen bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung. Die Erfindung ist jedoch nicht auf die bevorzugten Ausführungsformen beschränkt.

Beispiele

Ausführungsbeispiel 1

Unsere Untersuchungen zeigen, dass die DNA-Synthese humaner Fibroblasten durch die Administration von Inhibitoren der DP IV (Lys[Z(NO₂)]-thiazolidid) oder/und der APN (Actinonin) dosisabhängig gehemmt wird.

Humane Fibroblasten exprimieren stark DP IV und APN (Figur 1). Die Enzymaktivität der DP IV von vitalen Zellen beträgt $57,3 \pm 12,4$ pkat/ 10^6 Zellen,

die der APN beträgt $380,5 \pm 48,2$ pkat/ 10^6 Zellen ($n = 4$). Entsprechend ist die mRNA von APN und DP IV auf diesen Zellen nachweisbar (Figur 2).

Fibroblasten gesunder Spender wurden 48 h mit den oben genannten Inhibitoren inkubiert und anschließend über die Messung der 3 [H]-Thymidin-Inkorporation die DNA-Synthese bestimmt, wie bei Reinhold et al. beschrieben (Reinhold D et al.: Inhibitors of dipeptidyl peptidase IV induce secretion of transforming growth factor $\beta 1$ in PWM-stimulated PBMNC and T cells. Immunology 1997; 91: 354-360). Figur 3 zeigt die dosisabhängige Hemmung der DNA-Synthese.

Zur Messung des dosisabhängigen Effekts von Inhibitoren der DP IV (Lys[Z(NO₂)]-thiazolidid) und der Aminopeptidase N (Actinonin) auf die DNA-Synthese humaner Fibroblasten wurden die Zellen über 48 Stunden mit den angegebenen Konzentrationen der Inhibitoren inkubiert. Anschließend wurde dem Kulturmedium 3 [H]-Methyl-Thymidin zugesetzt und nach weiteren 6 Stunden die in die DNA eingebaute Menge an 3 [H]-Thymidin gemessen. Die Ergebnisse zeigt Figur 3.

Patentansprüche

1. Verwendung von Inhibitoren der Dipeptidylpeptidase IV (DP IV) sowie von Inhibitoren von Enzymen mit gleicher Substratspezifität (DP IV-analoge Enzymaktivität) oder/und von Inhibitoren der Alanyl-Aminopeptidase (Aminopeptidase N, APN) sowie von Inhibitoren von Enzymen gleicher Substratspezifität (APN-analoge Enzymaktivität) zur Hemmung der Proliferation (DNA-Synthese) humaner Fibroblasten.
2. Verwendung nach Anspruch 1, worin die Inhibitoren der DP IV Xaa-Pro-Dipeptide (Xaa = α -Aminosäure bzw. seitenkettengeschütztes Derivat), entsprechende Derivate, vorzugsweise Dipeptidphosphonsäurediarylester, Dipeptidboronsäuren (z.B. Pro-boro-Pro) und deren Salze, Xaa-Xaa-(Trp)-Pro-(Xaa)_n-Peptide (Xaa = α -Aminosäure, n = 0 bis 10), entsprechende Derivate und deren Salze, Aminosäure (Xaa)-amide, entsprechende Derivate und deren Salze, wobei Xaa eine α -Aminosäure bzw. ein seitenkettengeschütztes Derivat, vorzugsweise N^ε-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-L-Lysin, L-Isoleucin, L-Valin, L-Tryptophan, L-Prolin, ist und als Amidstruktur cyclische Amine, z.B. Pyrrolidin, Piperidin, Thiazolidin und deren Derivate fungieren, und/oder Tryptophan-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure-derivate (TSL) und (2S,2S',2S'')-2-[2''-[2'''-amino-3'''-(indol-3''''-yl)-1'''-oxopropyl]-1'',2'',3'',4''-tetrahydro-6''8''-dihydroxy-7-methoxyisochinol-3-yl-carbonyl-amino]-4-hydromethyl-5-hydropentansäure (TMC-2A) sind.
3. Verwendung nach Anspruch 1, worin Aminosäureamide, bevorzugt N^ε-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-L-Lysin-thiazolidid, -pyrrolidid und -piperidid sowie das entsprechende 2-Cyanothiazolidid-, 2-Cyanopyrrolidid- und 2-Cyanopiperididderivat, als DP IV-Inhibitoren eingesetzt werden.

4. Verwendung nach Anspruch 1, wobei als Inhibitoren der APN Actinonin, Leuhistin, Phebestin, Amastatin, Bestatin, Probestin, β -Aminothiole, α -Aminophosphinsäuren, α -Aminophosphinsäurederivate, vorzugsweise D- ψ -Phe-PO(OH)-CH₂]Phe-Phe, und deren Salze fungieren.
5. Verwendung von Inhibitorkombinationen nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Vorbeugung und Therapie von sowohl benignen fibrosierenden und sklerosierenden Erkrankungen (hier insbesondere postinfektiös und posttraumatisch: hypertrophe Narben, Keloide, Dermatofibrome, Fibrolipome wie auch disseminierte (Myo)-Fibromatosen) als auch malignen fibroblastären Hyperproliferationszuständen (z.B. Fibrosarkome, Mischtumoren wie atypisches Fibroxanthom, malignes fibröses Histiozytom, aggressives Angiomyxom, Paraneoplasien), von fibrosierenden Autoimmunerkrankungen wie der Sklerodermie (zirkumskripte S., progressiv-systemische S., CREST-Syndrom), der Dermatosklerose bei anderen Kollagenosen und der Graft-versus-Host-Erkrankung, des Lichen sclerosus et atrophicus und der heterogenen Gruppe der Pseudosklerodermien (wie z.B. die eosinophile/proliferierende Fasciitis, exogen verursachte Pseudosklerodermien wie Toxic oil syndrome, Silikose, Porphyrien, Eosinophilie-Myalgie-Syndrom, Lichen myxödematosus oder Borrelien-assoziierte Fibrosierungen), von sekundären Sklerosierungen wie z.B. im Rahmen einer Stauungsfibrose bei chronisch venöser Insuffizienz und bei Lipolymphödemen, im fibrosierenden Spätstadium der Alopecia androgenetica und von seltenen lokalisierten fibroblastären Erkrankungen (M. Dupuytren, M. Ledderhose, "Knuckle pads", Induratio penis plastica).
6. Pharmazeutische Zubereitungen, umfassend Inhibitoren der Dipeptidylpeptidase IV (DP IV) oder Inhibitoren von Enzymen mit DP IV-analoger Enzymaktivität oder/und Inhibitoren der Alanyl-Aminopeptidase (Aminopeptidase N, APN) oder Inhibitoren von Enzymen mit APN-analoger

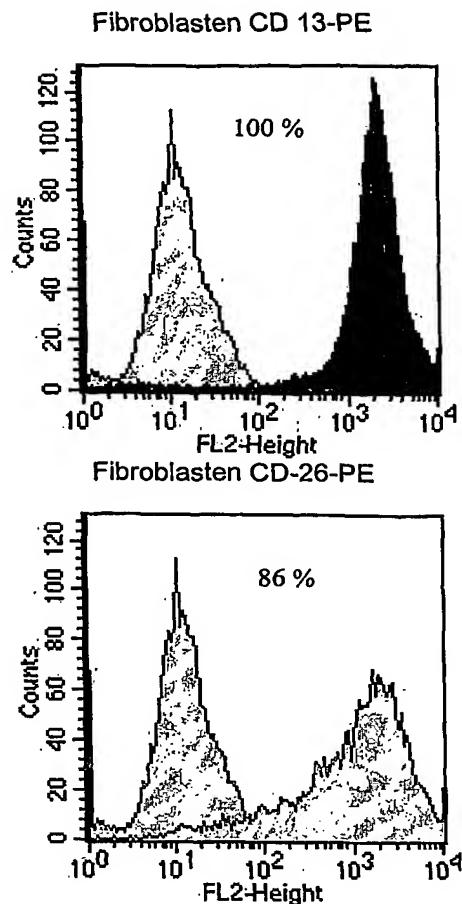
Enzymaktivität in Kombination mit an sich bekannten Träger-, Zusatz- und/oder Hilfsstoffen.

7. Pharmazeutische Zubereitungen nach Anspruch 6, umfassend als Inhibitoren der DP IV Xaa-Pro-Dipeptide (Xaa = α -Aminosäure bzw. seitenketten-geschützte Derivate), entsprechende Derivate, vorzugsweise Dipeptidphosphonsäurediarylester, Dipeptidboronsäuren (z. B. Pro-boro-Pro) und deren Salze, Xaa-Xaa-(Trp)-Pro-(Xaa)_n-Peptide (Xaa = α -Aminosäuren, n=0-10), entsprechende Derivate und deren Salze bzw. Aminosäure (Xaa)-amide, entsprechende Derivate und deren Salze, wobei Xaa eine α -Aminosäure bzw. seitenkettengeschütztes Derivat, vorzugsweise N^ε-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-L-Lysin, L-Isoleucin, L-Valin, L-Tryptophan, L-Prolin ist und als Amidstruktur cyclische Amine, z.B. Pyrrolidin, Piperidin, Thiazolidin und deren Derivate fungieren.
8. Pharmazeutische Zubereitungen nach Anspruch 6, umfassend als Inhibitoren der DP IV vorzugsweise Aminosäureamide, z.B. N^ε-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-L-Lysin-thiazolidid, -pyrrolidid und -piperidid sowie das entsprechende 2-Cyanothiazolidid-, 2-Cyanopyrrolidid- und 2-Cyano-piperididderivat.
9. Pharmazeutische Zubereitungen nach Anspruch 6, umfassend als Inhibitoren der APN Actinonin, Leuhistin, Phebestin, Amastatin, Bestatin, Probestin, β -Aminothiole, α -Aminophosphinsäuren, α -Aminophosphinsäurederivate, bevorzugt D-Phe- ψ [PO(OH)-CH₂]-Phe-Phe und deren Salze.
10. Pharmazeutische Zubereitungen nach einem der Ansprüche 6 bis 9, umfassend zwei oder mehrere der Inhibitoren der DP IV bzw. Inhibitoren von Enzymen mit DP IV-analoger Enzymaktivität oder/und Inhibitoren der APN bzw. Inhibitoren von Enzymen mit APN-analoger Enzymaktivität in räumlich getrennter Formulierung in Kombination mit an sich bekannten

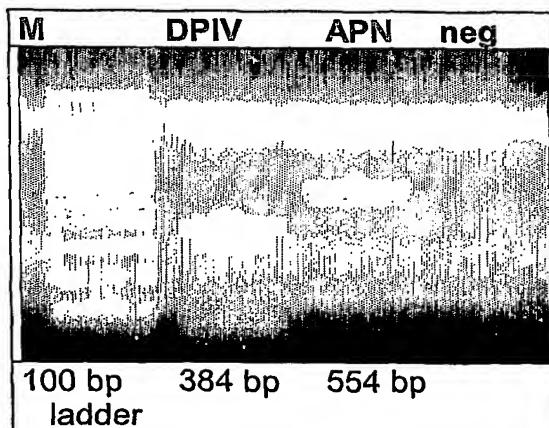
Träger-, Hilfs- und/oder Zusatzstoffen zur gleichzeitigen oder zeitlich unmittelbar aufeinanderfolgenden Verabreichung mit dem Ziel einer gemeinsamen Wirkung.

11. Pharmazeutische Zubereitungen gemäß Ansprüchen 6 bis 9 für die systemische Anwendung zur oralen, transdermalen, percutanen, intravenösen, subcutanen, intracutanen, intramuskulären, rektalen, vaginalen, sublingualen Applikation zusammen mit an sich bekannten Träger-, Hilfs- und/oder Zusatzstoffen.
12. Pharmazeutische Zubereitungen gemäß Ansprüchen 6 bis 10 für die topische Anwendung in Form von Cremes, Salben, Pasten, Gelen, Lösungen, Sprays, Liposomen bzw. Nanosomen, "pegyierten" Formulierungen, degradierbaren Depot-Matrizes, Schüttelmixturen, Hydrokolloidverbänden, Pflastern, Mikroschwämmen, Prepolymeren und ähnlichen neuen Trägersubstraten, Jet-Injektionen bzw. anderen dermatologischen Grundlagen/Vehikeln, einschließlich instillativer Applikation.
13. Verfahren zur Therapie und Prävention dermatologischer Erkrankungen mit Hyperproliferation und veränderten Differenzierungszuständen von Fibroblasten, umfassend die Verabreichung von Inhibitoren der Dipeptidylpeptidase IV (DP IV) sowie von Inhibitoren von Enzymen mit gleicher Substratspezifität (DP IV-analoge Enzymaktivität) oder/und von Inhibitoren der Alanyl-Aminopeptidase (Aminopeptidase N, APN) sowie von Inhibitoren von Enzymen gleicher Substratspezifität (APN-analoge Enzymaktivität).
14. Verfahren nach Anspruch 13, worin ein Inhibitor oder mehrere Inhibitoren der genannten Enzyme oder eine oder mehrere, diese Inhibitoren einzeln oder bevorzugt in Kombination enthaltende pharmazeutische

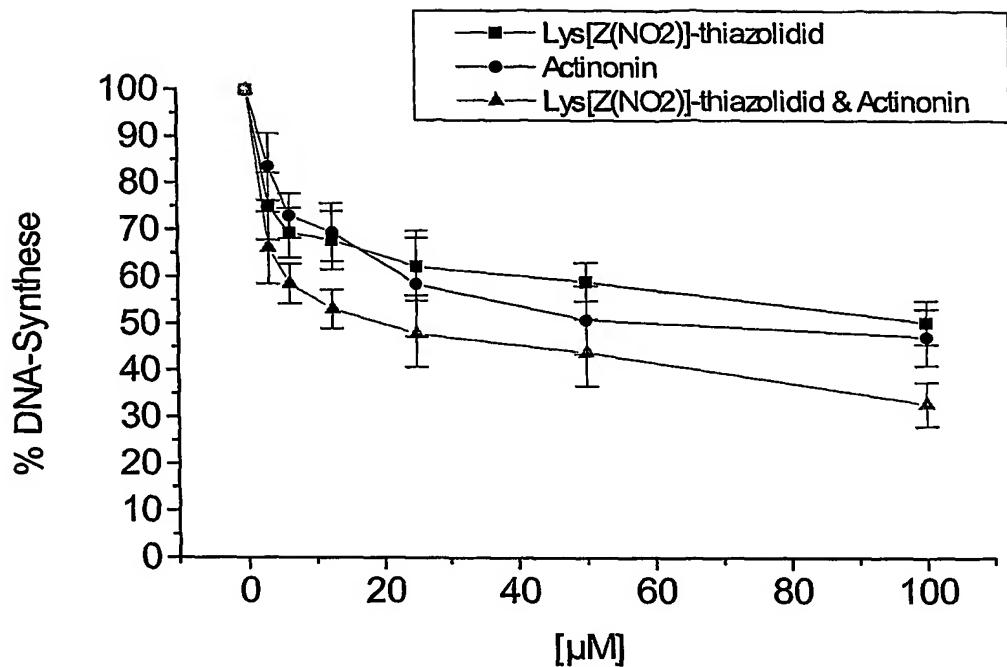
Zubereitung(en) an einen Patienten verabreicht werden, die gewählt sind aus Inhibitoren der DP IV und besonders bevorzugt aus Xaa-Pro-Dipeptiden (Xaa = α -Aminosäure bzw. seitenkettengeschütztes Derivat), entsprechenden Derivaten, vorzugsweise Dipeptidphosphonsäurediaryl-estern, Dipeptidboronsäuren (z.B. Pro-boro-Pro) und deren Salzen, Xaa-Xaa-(Trp)-Pro-(Xaa)_n-Peptiden (Xaa = α -Aminosäure, n = 0 bis 10), entsprechenden Derivaten und deren Salzen, Aminosäure (Xaa)-amiden, entsprechende Derivaten und deren Salzen, wobei Xaa eine α -Aminosäure bzw. ein seitenkettengeschütztes Derivat, vorzugsweise N^ε-4-Nitrobenzyloxycarbonyl-L-Lysin, L-Isoleucin, L-Valin, L-Tryptophan, L-Prolin, ist und als Amidstruktur cyclische Amine, z.B. Pyrrolidin, Piperidin, Thiazolidin und deren Derivate fungieren, und/oder Tryptophan-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure-derivate (TSL) und (2S,2S',2S'')-2-[2'-(2''-amino-3''-(indol-3''-yl)-1''-oxoprolyl]-1',2',3',4'-tetrahydro-6'8'-dihydroxy-7-methoxyisochinol-3-yl-carbonyl-amino]-4-hydromethyl-5-hydropentansäure (TMC-2A), und Inhibitoren der APN, besonders bevorzugt Actinonin, Leuhistin, Phebestin, Amastatin, Bestatin, Probestin, β -Aminothiolen, α -Aminophosphinsäuren, α -Aminophosphinsäurederivaten, vorzugsweise D- ψ -Phe-PO(OH)-CH₂]-Phe-Phe, und deren Salzen.



Figur 1: Durchflußzytometrischer Nachweis der Expression von APN (CD13) und DP IV (CD26) auf Fibroblasten



Figur 2: Nachweis der mRNA-Expression von DP IV (CD26) und APN (CD13) auf Fibroblasten mittels RT-PCR



Figur 3: Dosisabhängiger Effekt von Inhibitoren der DP IV (Lys[Z(NO₂)]-thiazolidid) und der Aminopeptidase N (Actinonin) auf die DNA-Synthese humaner Fibroblasten.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2004/007377

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K38/55 A61K45/06 A61P17/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, PAJ, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 02/053170 A (ANSORGE SIEGFRIED ; LENDECKEL UWE (DE); NEUBERT KLAUS (DE); REINHOLD D) 11 July 2002 (2002-07-11)	6-12
A	page 1 – page 2, line 2 page 4, last paragraph – page 5 page 8 – page 9, paragraph 1 page 11, paragraph 1 page 13 ----- DE 100 25 464 A (INST MEDIZINTECHNOLOGIE MAGDEB) 6 December 2001 (2001-12-06) claims 1-13 ----- -/-	1-5, 13, 14
X		1-4, 6-14

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

15 February 2005

01/03/2005

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Hars, J

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International Application No
 PCT/EP2004/007377

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 939 560 A (JENKINS PAUL D ET AL) 17 August 1999 (1999-08-17) cited in the application column 1, line 6 - line 27 column 2, line 25 - line 28 column 2, line 64 - line 65 -----	1-3,6-8, 11-14
A	RAYNAUD F ET AL: "CHARACTERIZATION OF SPECIFIC PROTEASES ASSOCIATED WITH THE SURFACE OF HUMAN SKIN FIBROBLASTS AND THEIR MODULATION IN PATHOLOGY" JOURNAL OF CELLULAR PHYSIOLOGY, vol. 151, no. 2, 1992, pages 378-385, XP009040761 ISSN: 0021-9541 abstract -----	1-14
X	FUJII HIDEJI ET AL: "Inhibition of tumor cell invasion and matrix degradation by aminopeptidase inhibitors" BIOLOGICAL AND PHARMACEUTICAL BULLETIN, vol. 19, no. 1, 1996, pages 6-10, XP001204025 ISSN: 0918-6158 abstract -----	1,4-6,9, 11-14
X	WO 03/045228 A (BRIGHAM & WOMENS HOSPITAL ; TUFTS COLLEGE (US); KUCHROO VIJAY K (US);) 5 June 2003 (2003-06-05) page 3, line 18 - line 23 page 7, line 24 - line 29 -----	1-3,5-8, 10-14
A	DIMON-GADAL STEPHANIE ET AL: "MAP kinase abnormalities in hyperproliferative cultured fibroblasts from psoriatic skin" JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, vol. 110, no. 6, June 1998 (1998-06), pages 872-879, XP002308341 ISSN: 0022-202X abstract -----	1-14
A	DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; 1983, SAISON M ET AL: "IDENTIFICATION OF CELL SURFACE DI PEPTIDYL PEPTIDASE IV EC-3.4.14.5 IN HUMAN FIBROBLASTS" XP002308342 Database accession no. PREV198477050630 abstract & BIOCHEMICAL JOURNAL, vol. 216, no. 1, 1983, pages 177-184, ISSN: 0264-6021 -----	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2004/007377

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: **1-14 (partly)**

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 1-5, 13, 14 relate to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out and was based on the stated effects of the compound or composition.

2. Claims Nos.: **1-14 (partly)**

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

see additional PCT/ISA/210 sheet

3. Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

Continuation of Box II.1

Although claims 1-5, 13, 14 relate to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out and was based on the stated effects of the compound or composition.

Continuation of Box II.2**Claims 1-14 (in part)**

The current claims 1-14 relate to substances characterized in each case by a desirable property or characteristic, namely:

- inhibitors of enzymes having the same substrate specificity (DP IV-analogue enzyme activity)
- inhibitors of enzymes have the same substrate specificity (APN-analogue enzyme activity).

Therefore the claims encompass all substances that have this characteristic or property, but the application provides support by the description (PCT Article 5) for only a limited number of such substances. In the present case the claims lack the proper support and the application lacks the requisite disclosure to such an extent that it appears impossible to carry out a meaningful search covering the entire range of protection sought.

Moreover, the claims also lack the requisite clarity (PCT Article 6) since they attempt to define the substances by the desired result in each case. This lack of clarity is also such that it is impossible to carry out a meaningful search covering the entire range of protection sought. Therefore the search was directed to the part of the claims that appear to be clear, supported or disclosed in the above sense, namely the parts concerning the substances:

- inhibitors of DP IV
- inhibitors of APN.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2004/007377

The applicant is advised that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established normally need not be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). In its capacity as International Preliminary Examining Authority the EPO generally will not carry out a preliminary examination for subjects that have not been searched. This also applies to cases where the claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or where the applicant submits new claims in the course of the procedure under PCT Chapter II. After entry into the regional phase before the EPO, however, an additional search can be carried out in the course of the examination (cf. EPO Guidelines, Part C, VI, 8.5) if the deficiencies that led to the declaration under PCT Article 17(2) have been remedied.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2004/007377

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 02053170	A 11-07-2002	DE 10100052 A1 DE 10102392 A1 DE 10155093 A1 CA 2436724 A1 CN 1484533 T WO 02053170 A2 EP 1349576 A2 JP 2004520330 T US 2004132639 A1		11-07-2002 14-08-2002 12-06-2003 11-07-2002 24-03-2004 11-07-2002 08-10-2003 08-07-2004 08-07-2004
DE 10025464	A 06-12-2001	DE 10025464 A1 AU 6747501 A AU 2001267475 B2 CA 2410305 A1 CN 1430519 T WO 0189569 A1 EP 1289559 A1 JP 2003534293 T US 2005014699 A1		06-12-2001 03-12-2001 04-11-2004 22-11-2002 16-07-2003 29-11-2001 12-03-2003 18-11-2003 20-01-2005
US 5939560	A 17-08-1999	AU 1113395 A AU 8421998 A CA 2178066 A1 CN 1141033 A ,C CZ 9601595 A3 EP 0731789 A1 FI 962315 A WO 9515309 A1 HU 76274 A2 JP 9509921 T NO 962269 A PL 314838 A1 RU 2156237 C2 TW 397811 B US 6201132 B1 ZA 9409525 A		19-06-1995 12-11-1998 08-06-1995 22-01-1997 15-01-1997 18-09-1996 05-08-1996 08-06-1995 28-07-1997 07-10-1997 30-07-1996 30-09-1996 20-09-2000 11-07-2000 13-03-2001 02-08-1995
WO 03045228	A 05-06-2003	AU 2002360453 A1 CA 2466870 A1 EP 1487471 A2 WO 03045228 A2		10-06-2003 05-06-2003 22-12-2004 05-06-2003

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2004/007377

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 A61K38/55 A61K45/06 A61P17/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 A61K A61P

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, PAJ, WPI Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 02/053170 A (ANSORGE SIEGFRIED ; LENDECKEL UWE (DE); NEUBERT KLAUS (DE); REINHOLD D) 11. Juli 2002 (2002-07-11)	6-12
A	Seite 1 - Seite 2, Zeile 2 Seite 4, letzter Absatz - Seite 5 Seite 8 - Seite 9, Absatz 1 Seite 11, Absatz 1 Seite 13	1-5, 13, 14
X	DE 100 25 464 A (INST MEDIZINTECHNOLOGIE MAGDEB) 6. Dezember 2001 (2001-12-06) Ansprüche 1-13	1-4, 6-14
	----- -----	-/-

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
 "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
 "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
 "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
 "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
 "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
- "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche

Absendedatum des Internationalen Recherchenberichts

15. Februar 2005

01/03/2005

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Hars, J

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2004/007377

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 5 939 560 A (JENKINS PAUL D ET AL) 17. August 1999 (1999-08-17) in der Anmeldung erwähnt Spalte 1, Zeile 6 – Zeile 27 Spalte 2, Zeile 25 – Zeile 28 Spalte 2, Zeile 64 – Zeile 65 -----	1-3,6-8, 11-14
A	RAYNAUD F ET AL: "CHARACTERIZATION OF SPECIFIC PROTEASES ASSOCIATED WITH THE SURFACE OF HUMAN SKIN FIBROBLASTS AND THEIR MODULATION IN PATHOLOGY" JOURNAL OF CELLULAR PHYSIOLOGY, Bd. 151, Nr. 2, 1992, Seiten 378-385, XP009040761 ISSN: 0021-9541 Zusammenfassung -----	1-14
X	FUJII HIDEJI ET AL: "Inhibition of tumor cell invasion and matrix degradation by aminopeptidase inhibitors" BIOLOGICAL AND PHARMACEUTICAL BULLETIN, Bd. 19, Nr. 1, 1996, Seiten 6-10, XP001204025 ISSN: 0918-6158 Zusammenfassung -----	1,4-6,9, 11-14
X	WO 03/045228 A (BRIGHAM & WOMENS HOSPITAL ; TUFTS COLLEGE (US); KUCHROO VIJAY K (US);) 5. Juni 2003 (2003-06-05) Seite 3, Zeile 18 – Zeile 23 Seite 7, Zeile 24 – Zeile 29 -----	1-3,5-8, 10-14
A	DIMON-GADAL STEPHANIE ET AL: "MAP kinase abnormalities in hyperproliferative cultured fibroblasts from psoriatic skin" JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, Bd. 110, Nr. 6, Juni 1998 (1998-06), Seiten 872-879, XP002308341 ISSN: 0022-202X Zusammenfassung -----	1-14
A	DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; 1983, SAISON M ET AL: "IDENTIFICATION OF CELL SURFACE DI PEPTIDYL PEPTIDASE IV EC-3.4.14.5 IN HUMAN FIBROBLASTS" XP002308342 Database accession no. PREV198477050630 Zusammenfassung & BIOCHEMICAL JOURNAL, Bd. 216, Nr. 1, 1983, Seiten 177-184, ISSN: 0264-6021 -----	1-14

Feld II Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. Ansprüche Nr. **1-14 (teilweise)**
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Obwohl die Ansprüche 1-5,13,14 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. Ansprüche Nr. **1-14 (teilweise)**
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
siehe BEIBLATT PCT/ISA/210
3. Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld III Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
 Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld II.1

Obwohl die Ansprüche 1-5, 13, 14 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.

Fortsetzung von Feld II.2

Ansprüche Nr.: 1-14 (teilweise)

Die geltenden Patentansprüche 1-14 beziehen sich auf Substanzen, jeweils charakterisiert durch eine erstrebenswerte Eigenheit oder Eigenschaft, nämlich

- Inhibitoren von Enzymen mit gleicher Substratspezifität (DP IV-analoge Enzymaktivität)
- Inhibitoren von Enzymen mit gleicher Substratspezifität (APN-analoge Enzymaktivität)

Die Patentansprüche umfassen daher alle Substanzen, die diese Eigenheit oder Eigenschaft aufweisen, wohingegen die Patentanmeldung Stütze durch die Beschreibung im Sinne von Artikel 5 PCT nur für eine begrenzte Zahl solcher Produkte etc. liefert. Im vorliegenden Fall fehlen den Patentansprüchen die entsprechende Stütze bzw. der Patentanmeldung die nötige Offenbarung in einem solchen Masse, dass eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich erscheint. Desungeachtet fehlt den Patentansprüchen auch die in Artikel 6 PCT geforderte Klarheit, nachdem in ihnen versucht wird, die Substanzen über das jeweils erstrebte Ergebnis zu definieren. Auch dieser Mangel an Klarheit ist dergestalt, dass er eine sinnvolle Recherche über den gesamten erstrebten Schutzbereich unmöglich macht. Daher wurde die Recherche auf die Teile der Patentansprüche gerichtet, welche im o.a. Sinne als klar, gestützt oder offenbart erscheinen, nämlich die Teile betreffend die Substanzen:

- Inhibitoren von DP IV
- Inhibitoren von APN

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, dass Patentansprüche auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit, der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, dass die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, dass der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentanprüche vorlegt. Nach Eintritt in die regionale Phase vor dem EPA kann jedoch im

WEITERE ANGABEN	PCT/ISA/ 210
Zuge der Prüfung eine weitere Recherche durchgeführt werden (Vgl. EPA-Richtlinien C-VI, 8.5), sollten die Mängel behoben sein, die zu der Erklärung gemäss Art. 17 (2) PCT geführt haben.	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/007377

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung		Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 02053170	A	11-07-2002		DE 10100052 A1 DE 10102392 A1 DE 10155093 A1 CA 2436724 A1 CN 1484533 T WO 02053170 A2 EP 1349576 A2 JP 2004520330 T US 2004132639 A1		11-07-2002 14-08-2002 12-06-2003 11-07-2002 24-03-2004 11-07-2002 08-10-2003 08-07-2004 08-07-2004
DE 10025464	A	06-12-2001		DE 10025464 A1 AU 6747501 A AU 2001267475 B2 CA 2410305 A1 CN 1430519 T WO 0189569 A1 EP 1289559 A1 JP 2003534293 T US 2005014699 A1		06-12-2001 03-12-2001 04-11-2004 22-11-2002 16-07-2003 29-11-2001 12-03-2003 18-11-2003 20-01-2005
US 5939560	A	17-08-1999		AU 1113395 A AU 8421998 A CA 2178066 A1 CN 1141033 A ,C CZ 9601595 A3 EP 0731789 A1 FI 962315 A WO 9515309 A1 HU 76274 A2 JP 9509921 T NO 962269 A PL 314838 A1 RU 2156237 C2 TW 397811 B US 6201132 B1 ZA 9409525 A		19-06-1995 12-11-1998 08-06-1995 22-01-1997 15-01-1997 18-09-1996 05-08-1996 08-06-1995 28-07-1997 07-10-1997 30-07-1996 30-09-1996 20-09-2000 11-07-2000 13-03-2001 02-08-1995
WO 03045228	A	05-06-2003		AU 2002360453 A1 CA 2466870 A1 EP 1487471 A2 WO 03045228 A2		10-06-2003 05-06-2003 22-12-2004 05-06-2003